

DOI 10.17516/1997-1389-0335

УДК 563.95:591.436.2:661.723

The Relationship between Integrated Biochemical Index and Content of Organochlorine Xenobiotics in the Liver of the Black Scorpion Fish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758, from Sevastopol Bays and Coastal Areas

**Ludmila V. Malakhova*, Ekaterina N. Skuratovskaya,
Tatiana V. Malakhova and Veronika V. Lobko**
*A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS
Sevastopol, Russian Federation*

Received 01.02.2020, received in revised form 12.08.2020, accepted 28.10.2020

Abstract. Despite the ban on the use of organochlorine compounds (OCs), they are still widely distributed in various components of the Black Sea ecosystem, including fish. Sevastopol marine area, as a region of active economic use, is subject to significant anthropogenic impact. To assess the condition of the Black Sea scorpion fish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758, from Sevastopol bays (Aleksandrovskaya, Streletskaya, Balaklavskaya, and Kazach'ia) and coastal areas (Laspi bay and Lyubimovka region), the liver of fish was analyzed to compare integrated biomarker response (IBR) and the concentrations of OCs: six indicator congeners of polychlorinated biphenyls (ΣPCB_6) and organochlorine pesticides – p,p'-DDT and its metabolites p,p'-DDE and p,p'-DDD (ΣDDT). High concentrations of PCBs and DDTs were found in fish liver from Alexandrovskaya and Streletskaya bays, which are subject to significant anthropogenic impact: 2044 and 2019 ng/g wet weight for ΣPCB_6 and 162 and 319 ng/g wet weight for ΣDDT , respectively. To determine the response of scorpion fish to the level of pollution, the liver of fish was analyzed to measure such biochemical markers as cholinesterase and catalase activities, albumin content, and the levels of oxidized proteins and lipid peroxidation. The set of these biochemical markers was used to calculate IBR. IBR correlated well with the ΣPCB_6 concentration in sediments and liver of scorpion fish ($r=0.95$, $p<0.05$). The maximum IBR was determined in the most polluted Alexandrovskaya and Streletskaya bays, where it was two orders of magnitude higher than the IBR in Laspi bay. Based on IBR values, the fish from Laspi and Kazach'ia bays and from the coastal area of Lyubimovka were in better

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: malakh2003@list.ru

ORCID: 0000-0001-8810-7264 (Malakhova L.); 0000-0003-4501-5065 (Skuratovskaya E.); 0000-0002-9653-7341 (Malakhova T.); 0000-0001-9993-3764 (Lobko V.)

condition than the fish from Alexandrovskaya, Streletskaya, and Balaklavskaya bays in summer seasons of 2016-2018.

Keywords: *Scorpaena porcus*, polychlorinated biphenyls, DDTs, biomarkers, integrated biochemical response, Sevastopol marine area, the Black Sea.

Citation: Malakhova L.V., Skuratovskaya E.N., Malakhova T.V., Lobko V.V. The relationship between integrated biochemical index and content of organochlorine xenobiotics in the liver of the black scorpion fish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758, from Sevastopol bays and coastal areas. J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2020, 13(4), 387–409. DOI: 10.17516/1997-1389-0335

Связь интегрального биохимического индекса и содержания хлорорганических ксенобиотиков в печени морского ерша *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 в севастопольской морской акватории

**Л.В. Малахова, Е.Н. Скуратовская,
Т.В. Малахова, В.В. Лобко**
*Институт биологии южных морей
им. А.О. Ковалевского РАН
Российская Федерация, Севастополь*

Аннотация. Несмотря на запрет применения хлорорганических соединений (ХОС), они до настоящего времени аккумулируются в различных абиотических и биотических компонентах экосистемы Черного моря, в том числе и в рыбах, вызывая негативные изменения в их метаболизме. Для оценки состояния морского ерша (скорпены) *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 сопоставлены значения интегрального биохимического индекса (ИБХИ), рассчитанного по биохимическим показателям, и концентрации шести индикаторных конгенеров полихлорбифенилов (Σ ПХБ₆) и хлорорганических пестицидов группы п,п'-ДДТ, п,п'-ДДЭ и п,п'-ДДД (Σ ДДТ) в печени рыб из бухт (Александровская, Стрелецкая, Балаклавская и Казачья) и открытых районов севастопольской морской акватории (бухта Ласпи и побережье микрорайона Любимовка). В бухтах Александровская и Стрелецкая, подверженных значительному антропогенному влиянию, обнаружены высокие концентрации ХОС в печени, составляющие для Σ ПХБ₆ 2044 и 2019 и для Σ ДДТ 162 и 319 нг/г сырой массы соответственно. Для определения отклика организма на уровень загрязнения в печени ерша исследовали комплекс таких биохимических маркеров, как активность холинэстеразы, каталазы, содержание альбумина, уровень окислительной модификации белков и продуктов перекисного окисления липидов. Выявлены статистически достоверные корреляционные связи между значениями ИБХИ, рассчитанного по комплексу этих биохимических показателей, и концентрацией Σ ПХБ₆ в печени ерша и в донных отложениях ($r=0,95$, $p<0,05$). Максимальные значения ИБХИ соответствовали наиболее загрязненным бухтам Александровская и Стрелецкая, в которых

они на два порядка превышали величины ИБХИ в бухте Ласпи. По показателям ИБХИ рыбы в районах бухт Ласпи, Казачья и в открытой акватории Любимовки в летние сезоны 2016-2018 гг. находились в более благоприятном состоянии, чем в полужакрытых бухтах Александровская, Стрелецкая и Балаклавская.

Ключевые слова: *Scorpaena porcus*, полихлорированные бифенилы, ДДТ, биомаркеры, интегральный биохимический индекс, севастопольская морская акватория, Черное море.

Цитирование: Малахова, Л.В. Связь интегрального биохимического индекса и содержания хлорорганических ксенобиотиков в печени морского ерша *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 в севастопольской морской акватории / Л.В. Малахова, Е.Н. Скуратовская, Т.В. Малахова, В.В. Лобко // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2020. 13(4). С. 387–409. DOI: 10.17516/1997-1389-0335

Введение

Севастопольская морская акватория на протяжении многих десятилетий является районом активного хозяйственного использования, подвергающимся значительному техногенному воздействию. К наиболее опасным загрязняющим веществам антропогенного происхождения, поступающим из различных источников в прибрежные морские районы Севастополя, относятся такие хлорорганические соединения (ХОС), как полихлорированные бифенилы (ПХБ) и хлорорганический пестицид 1,1,1-трихлор-2,2-бис(4-хлорфенил)этан (далее – ДДТ) (Малахова, 2005; Малахова и др., 2019). В течение нескольких десятилетий во всем мире, в том числе в странах причерноморского региона, ПХБ экстенсивно использовались как диэлектрики, теплоносители, добавки к клеям, маслам, лакам и др., а ДДТ – для борьбы с возбудителями малярии и энцефалита и как инсектицид на сельскохозяйственных угодьях (Трегер, Розанов, 2000; Li et al., 2006; Reddy et al., 2019). В 1980-1990-х гг. загрязненность черноморской акватории Крыма была настолько высока, что ХОС обнаруживали во всех без исключения ее компонентах: планктоне, водорослях-макрофитах, моллюсках, рыбе и донных осадках. Высокая концентрация ПХБ (в эквиваленте Ароклор 1254) была выявлена в пелагических видах рыб *Trachurus*

mediterraneus, *Lisa aurata*, *Odontogadus merlangus luxinus*, составляла 454, 240 и 560, а также в донных видах *Psetta maxima maeotica* и *Neogobius kessleri kessleri* – 105 и 232 нг/г сырой массы соответственно (Поликарпов, Жерко, 1996). В последние годы содержание ХОС в гидробионтах в этих районах изменялось от $n \cdot 10^{-2}$ до $n \cdot 10^2$ нг/г сырой массы (Малахова и др., 2019). А в так называемых критических органах гидробионтов, функции которых среди прочих заключаются в выведении токсикантов из организмов (гепатопанкреас у моллюсков, печень у рыб и млекопитающих), концентрация ХОС достигала $n \cdot 10^3 - 10^5$ нг/г сырой массы (Логоминова и др., 2018; Malakhova et al., 2014). В последние годы нами была выявлена положительная корреляционная связь содержания ХОС в воде и смертности пелагической икры и отрицательная – с численностью личинок рыб на ранних этапах постэмбрионального развития (Klimova et al., 2014).

В настоящее время большое внимание уделяется поиску видов-индикаторов загрязнения морской среды различными токсикантами. Одним из таких гидробионтов является морской ерш (скорпена) *Scorpaena porcus* (L.), широко распространенный вид для донной прибрежной ихтиофауны Черного моря, ведущий малоподвижный оседлый образ жизни в конкретных участках моря. Биохимические

показатели морского ерша нашли широкое применение в биоиндикации состояния сева-стопольских бухт (Rudneva et al., 2016).

Для оценки воздействия токсикантов и ответных реакций морских животных на загрязненность среды обитания часто используют биохимические показатели, позволяющие выявить механизмы воздействия комплекса негативных факторов среды на конкретные звенья метаболизма, определить основную стратегию и особенности структурно-функциональных изменений в организме при адаптации к неблагоприятным условиям обитания. В качестве таких биомаркеров широко используют параметры прооксидантно-антиоксидантной системы, активность холинэстеразы, концентрацию белков, включая альбумин (Пашина, Золотавина, 2014; Van der Oos et al., 2003; Tierney et al., 2003; Michelis et al., 2010; Rudneva et al., 2016; Luk'yanova, Korchagin, 2017). В современных программах мониторинга для интерпретации суммарного отклика нескольких молекулярных биомаркеров применяют интегральные биохимические индексы состояния организмов. Такие индексы позволяют снизить сложность и неопределенность многомерных данных путем вычисления универсального обобщающего показателя и сравнить состояние организмов из акваторий с различным уровнем загрязнения (Beliaeff, Burgeot, 2002; Leiniö, Lehtonen, 2005; Vieira et al., 2016; Giltrap et al., 2017; Luk'yanova, Korchagin, 2017).

Целью работы стало выявление связи содержания ХОС и интегрального индекса биохимических показателей в печени скорпены в бухтах и открытой морской акватории Севастополя.

Материалы и методы

Рыб отлавливали в летние периоды с 2016 по 2018 г. в различных по размерам, степени

изолированности от моря и уровню загрязненности четырех севастопольских бухт, имеющих ограниченный водообмен с открытым морем: Александровской, Стрелецкой, Балаклавской и Казачьей, а также в открытых районах моря – бухте Ласпи и прибрежной зоне микрорайона Любимовка. Бухты перечислены в порядке уменьшения антропогенной нагрузки на их акватории: по объемам сбросов промышленно-бытовых и ливневых стоков, урбанизации их берегов, базированию флота, судоходству, препятствующим водообмену гидротехническим сооружениям (Овсяный и др., 2001). Бухта Ласпи по морфологии относится к морскому заливу и, как открытая прибрежная зона микрорайона Любимовка, имеет свободный водообмен с шельфовой зоной Крыма.

Даты отлова рыбы и отбора проб донных отложений, координаты и описание районов и вероятных источников загрязнения указаны в табл. 1.

Для определения индивидуальных особенностей в накоплении ХОС и биологических откликов на уровень загрязненности в каждом районе были отобраны пробы печени от 7 до 9 самцов и самок ерша, имевших стандартную длину в пределах 16-17 см. После полного биологического анализа особей и отбора проб для биохимических исследований печень рыб упаковывали в фольгу и до анализа на ХОС хранили в морозильной камере при минус 20 °С. Пробоподготовку и определение ХОС в печени проводили в соответствии с руководством (МВИ МН 2352–2005). Для анализа брали размороженные образцы печени от индивидуальных особей. Печень у ерша длиной 16-17 см является крупным органом. Аликвоты гомогенизированной печени (по 0,5 г сырой массы) в двух повторностях смешивали с безводным сульфатом натрия и экстрагировали ХОС смесью неполярного

Таблица 1. Даты, координаты и описание районов отлова рыб и отбора проб донных отложений

Table 1. Dates, geographic coordinates and description of the fish and bottom sediment sampling sites

Дата отбора	Район отбора проб	Описание района	Источники загрязнения	Координаты	
				с.ш.	в.д.
23.05.2016; 28.06.2017	Бухта Александровская	Часть большой Севастопольской бухты, отделенная от открытых районов моря молом	Старейший в г. Севастополе яхт-клуб	44°37'01"	33°30'49"
12.05.2017; 07.06.2017	Бухта Стрелецкая	Глубоко вдается в сушу, с искусственной насыпью для причалов судов	Сброс стоков КОС, яхтинг, причалы судов, ливневый сток	44°36'17"	33°28'08"
21.05.2016; 12.06.2017	Бухта Балаклавская	Полузамкнутая с ограниченным водообменом с открытым морем	Яхтинг, стоки бытовых вод, сток реки Балаклавки	44°29'42"	33°35'39"
01.06.2016; 24.06.2017	Бухта Казачья	Глубоковрезанная в сушу бухта со свободным водообменом с открытым морем	Нефтяной терминал «Югторсан», аварийные выходы сточных вод	44°34'30"	33°24'45"
04.06.2017	Бухта Ласпи	Открытая морская бухта	Рекреационная нагрузка, сброс вод с очистных сооружений	44°25'07"	33°42'20"
06.07.2017; 25.07.2018	Акватория Любимовки	Открытое море	Рекреационная нагрузка, устье реки Бельбек	44°40'10"	33°32'25"

гексана (фирмы Fluka) и полярного ацетона (фирмы Lab-Scan) в соотношении 3:1 в аппарате Сокслета в течение 4 ч. Затем отгоняли растворители на лабораторном роторном испарителе Laborota 4000 (Heidolph, Германия) при температуре 40 °С и для выявления влияния фактора жирности печени на накопление ХОС определяли экстрагированные липиды гравиметрическим методом (ГОСТ 7636–85). Очистку экстрактов от мешающего влияния соэкстрагировавшихся веществ проводили на колонках с флорисилом (фирма Merck, Германия). Для оценки возможного загрязнения в ходе пробоподготовки, а также для оценки чистоты реактивов и оборудования определяли ХОС в холостых пробах тем же методом, что и отобранные пробы.

Интенсивность антропогенной нагрузки в районах отлова рыб устанавливали по уров-

ню содержания ПХБ и ДДТ и его метаболитов в донных осадках. Донные осадки отбирали гравиметрической трубкой диаметром 6 см в трех точках каждого района обитания ершей. Для усреднения пробы верхние слои (0–2 см) этих кернов были смешаны, гомогенизированы и высушены при температуре 40–50 °С. Подготовка и анализ проб донных осадков осуществляли в соответствии с ГОСТ Р 53217-2008. Удаление элементарной серы из экстрактов донных отложений проводили с помощью активированной металлической меди.

Анализ ХОС осуществляли в ЦКП «Спектрометрия и Хроматография» ФИЦ ИнБЮМ на газовом хроматографе Хроматэк Кристалл 5000 (Россия) с микродетектором электронного захвата и капиллярной колонкой (30 м*0,32 мм*0,25 мкм) с непод-

вижной фазой CR-5. Условия, обеспечивающие разделение при совместном присутствии шести конгенеров ПХБ, ДДТ и его метаболитов 1,1-дихлор-2,2-бис-(4-хлорфенил)этилена (далее – ДДЭ) и 1,1-дихлор-2,2-бис-(4-хлорфенил)этана (далее – ДДД), были следующими: температура испарителя 280 °С, начальная температура термостата колонки 150 °С (0 мин), далее нагрев 5°/мин до 220 °С (2 мин), далее 2°/мин до 240 °С (2 мин), далее 5°/мин до 290 °С (10 мин), температура ЭЗД 300 °С, газ-носитель – азот, делитель потока 1:20, постоянный поток 2 мл/мин, начальная скорость через колонку 40 см/с.

В пробах печени и донных осадков была измерена концентрация ДДТ и его метаболитов ДДЭ и ДДД, а также шести индикаторных конгенеров ПХБ (номера даны по номенклатуре IUPAC): трихлорбифенила (ХБ) 28, тетраХБ 52, пентаХБ 101, гексаХБ 138, 153 и гептаХБ 180. Стандартные образцы конгенеров ПХБ, ДДТ, ДДЭ и ДДД приобретали в компании «Sigma-Aldrich». Концентрация токсикантов представлена в виде суммы ДДТ и его метаболитов (ΣДДТ) и суммы индикаторных конгенеров ПХБ (ΣПХБ₆), выраженной в нг/г сырой массы в печени ерша и в нг/г сухой массы в донных отложениях. Ошибка определения ХОС не превышала 20 %. Для внутреннего контроля качества проводимых анализов использовали сертифицированные стандартные образцы гидробионтов (гомогената тунца IAEA-435 (IAEA, Монако). Полученные концентрации в данном образце показали хорошую сходимость с рекомендованными значениями и были равны: для п,п'-ДДЭ – 81,95 (рекомендованный интервал равен 91 +/- 58); ПХБ 52 – 8,22 (4,4 +/- 4,6); ПХБ 101 – 27,97 (23 +/- 10); ПХБ 153 – 87,50 (81 +/- 37); ПХБ 138 – 64,18 (70 +/- 32); ПХБ 180 – 39,14 (32 +/- 13) нг/г сухой массы.

Отклик организмов рыб на загрязненность окружающей среды определяли по изменению биохимических параметров печени: концентрации альбумина (Алб), активности холинэстеразы (ХЭ), показателей прооксидантно-антиоксидантной системы (активность каталазы (Кат), уровень окислительной модификации белков (ОМБ) и перекисного окисления липидов (ПОЛ)).

Образцы ткани печени несколько раз промывали холодным физраствором, гомогенизировали, центрифугировали в лабораторной рефрижераторной центрифуге MPW-352R (Польша) 15 мин с ускорением 10000 g. Для дальнейшего анализа использовали супернатант.

Концентрацию альбумина определяли с применением стандартного набора реагентов «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ» (Россия). Активность ХЭ анализировали с помощью ацетилхолинхлорида в качестве субстрата (Каталог инструкций, 2005). Активность Кат регистрировали по реакции взаимодействия перекиси водорода с молибдатом аммония (Королук и др., 1988). Уровень ОМБ выявляли по реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином. Оптическую плотность образовавшихся 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали при следующих длинах волн: 346 и 370 нм (альдегидные и кетонные продукты окислительной модификации нейтрального характера), 430 нм (альдегидные продукты окислительной модификации основного характера) (Дубинина и др., 1995). Для расчета интегрального биохимического индекса (ИБХИ) использовали суммарное значение трех показателей ОМБ. Уровень ПОЛ регистрировали по реакции с тиобарбитуровой кислотой (Стальная, Гаришвили, 1977). Биохимические показатели пересчитывали на белок сырой массы ткани, концентра-

цию которого определяли с использованием стандартного набора реагентов «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ». Измерения проводили на спектрофотометре СФ-2000 (Россия).

Для оценки ИБХИ проводили расчеты, представленные в (Beliaeff, Burgeot, 2002), в которых использовали среднее значение биомаркеров (\bar{X}) на станции, среднее значение по всей выборке данных (m), его стандартное квадратичное отклонение (s), параметр $Y = (\bar{X} - m)/s$, который представляет собой стандартизованное среднее \bar{X} , параметр Z , равный Y или $-Y$, если биологический эффект соответственно активировался или ингибировался, минимальное значение для каждого биомаркера для всех станций (\min) и значение S , рассчитанное как $S = Z + |\min|$.

ИБХИ определяли по площади многоугольников, полученных на лепестковых диаграммах. Пример диаграммы ИБХИ для печени ершей из бухты Александровской показан на рис. 1.

Площадь пятиугольника АБВГД, очерченного на диаграмме, где на радиальных осях отложены стандартизованные значения биохимических маркеров S , рассчитывали по формуле (1) как сумму площадей (Δ) пяти треугольников, с общей вершиной в точке О:

$$\Delta_{\text{АБВГД}} = \Delta_{\text{АОБ}} + \Delta_{\text{БОВ}} + \Delta_{\text{ВОГ}} + \Delta_{\text{ГОД}} + \Delta_{\text{ДОА}}. \quad (1)$$

Площади треугольников рассчитаны через две стороны, которыми являются показатели биохимического отклика S и синус угла между ними, равного $2\pi/5$. Приведем пример расчета площади $\Delta_{\text{АОБ}}$:

$$\Delta_{\text{АОБ}} = (1/2) A_O \cdot B_O \cdot \sin(2\pi/5). \quad (2)$$

Достоверность различий уровней концентрации ХОС оценена с помощью U-критерия Манна-Уитни. Статистическая надежность уравнений нелинейной регрессии оценена с помощью F-статистики распределения Фишера. Оценку значимости коэффициента корреляционной связи (r) концентрации ХОС в печени ершей, донных отложений и ИБХИ проводили с использованием t -критерия Стьюдента. Статистическая обработка и графическое оформление полученных результатов выполнены с помощью пакета прикладных программ R, MS Excel 2016, «Гидролог» (Belokopytov, 1998).

Результаты

В донных отложениях во всех районах обнаружены следующие пять индикаторных

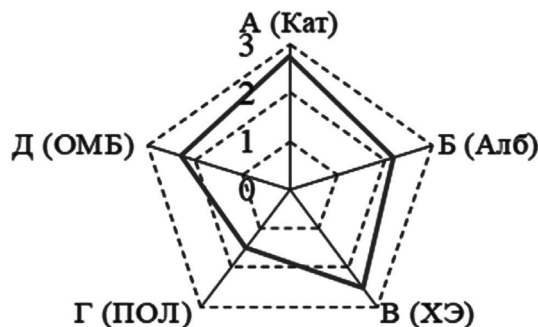


Рис. 1. Лепестковая диаграмма биохимических маркеров из бухты Александровской. Кат – активность каталазы, Алб – содержание альбумина, ХЭ – активность холинэстеразы, ПОЛ – уровень перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков (ОМБ)

Fig. 1. A biomarker radar chart for the station in Alexandrovskaya Bay. Cat: catalase activity, Alb: albumin content, ChE: cholinesterase activity, LP: lipid peroxidation, OP: level of oxidized proteins

конгенов ПХБ: 52, 101, 138, 153 и 180. В бухтах Александровская и Стрелецкая, которые наиболее подвержены антропогенному прессу, донные отложения были представлены илами, концентрация $\Sigma\text{ПХБ}_5$ в них составила в среднем 110 и 121, а $\Sigma\text{ДДТ}$ – 35 и 51 нг/г соответственно. В бухте Балаклавской содержание $\Sigma\text{ПХБ}_5$ в грунтах равнялось 59, $\Sigma\text{ДДТ}$ – 36 нг/г. В Казачьей бухте в районе вылова ершей дно образовано крупной заиленной галькой, где загрязняющие вещества группы ДДТ не накапливались, концентрация ПХБ по сравнению с другими исследованными бухтами была минимальной – 9 нг/г (рис. 2).

Акватории Любимовки и бухты Ласпи относятся к открытым прибрежным участкам моря, где грунт состоит в основном из песка,

слабо сорбирующего гидрофобные загрязняющие вещества. Содержание $\Sigma\text{ПХБ}_5$ в этих районах было меньше, чем в бухтах, и составляло 4 и 6 нг/г соответственно, а концентрация $\Sigma\text{ДДТ}$ была практически равной – 1 нг/г.

Показатель жирности печени рыб изменялся в интервале от 13 до 32 %, в среднем составил 24 ± 6 % на сырую массу (результаты представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение, табл. 2). Достоверной разницы показателей жирности печени ерша между бухтами и открытыми районами не выявлено.

Во всех пробах печени обнаружены шесть индикаторных конгенов ПХБ, а также метаболиты ДДТ: ДДЭ и ДДД (кроме бухты Казачьей, где ДДД не обнаружен).

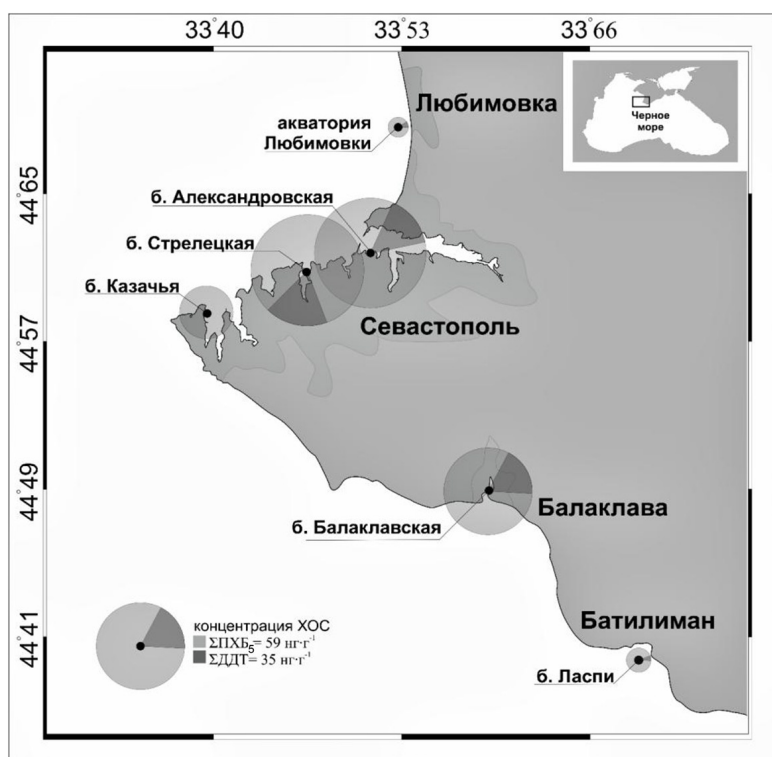


Рис. 2. Средняя концентрация ХОС в донных отложениях в районах отлова морского ерша в севаستопольской морской акватории в 2016–2017 гг. (Малахова и др., 2018) и в 2018 г.

Fig. 2. Mean OC concentration in the bottom sediments at scorpion fish catch stations in the Sevastopol marine area in 2016–2017 (Malakhova et al., 2018) and in 2018

Таблица 2. Среднее содержание липидов (+/- СКО, % сырой массы), средняя концентрация п,п'-ДДТ и его метаболитов п,п'-ДДЭ и п,п'-ДДД и конгенов ПХБ (+/- СКО, нг/г сырой массы) в печени ерша *Scorpaena porcus* в бухтах и открытых районах морской акватории Севастополя

Table 2. Mean fat content (+/- SD, % wet weight), mean concentration of p,p'-DDT and its metabolites p,p'-DDE and p,p'-DDD and of six PCB congeners (+/- SD, ng/g wet weight) in the liver of *Scorpaena porcus* from Sevastopol bays and the offshore area

Район	Количество особей	Липиды	п,п'- ДДЭ	п,п'- ДДД	п,п'- ДДТ	ПХБ 28	ПХБ 52	ПХБ 101	ПХБ 153	ПХБ 138	ПХБ 180
Бухта Александров- ская	9	23 +/- 1	116 +/- 67	24 +/- 9	22 +/- 3	21 +/- 5	215 +/- 104	81 +/- 7	796 +/- 209	780 +/- 204	151 +/- 25
Бухта Стрелецкая	7	18 +/- 9	278 +/- 230	23 +/- 18	18 +/- 10	10 +/- 3	429 +/- 192	169 +/- 132	618 +/- 475	604 +/- 481	189 +/- 148
Бухта Балаклавская	9	30 +/- 5	299 +/- 64	22 +/- 12	15 +/- 9	15 +/- 13	131 +/- 118	76 +/- 75	468 +/- 250	348 +/- 158	138 +/- 52
Бухта Казачья	8	20 +/- 1	42 +/- 6	н.обн.	2 +/- 1	2 +/- 1	33 +/- 17	13 +/- 4	253 +/- 54	257 +/- 96	63 +/- 8
Акватория Любимовки	9	28 +/- 6	119 +/- 66	5 +/- 2	7 +/- 5	0,8 +/- 0,6	77 +/- 26	25 +/- 7	142 +/- 20	158 +/- 19	44 +/- 19
Бухта Ласпи	9	22 +/- 4	88 +/- 36	15 +/- 11	10 +/- 3	2 +/- 1	40 +/- 38	37 +/- 23	24 +/- 17	28 +/- 23	8 +/- 4

Обозначение: н.обн. – не обнаружено.

В 83 % образцов определен также исходный пестицид ДДТ. Анализ содержания ХОС показал многократные достоверные различия ($p < 0,05$) между исследованными станциями (табл. 2). Наиболее высокая концентрация пестицидов группы ДДТ определена в бухтах Балаклавской и Стрелецкой, наименьшая – в бухте Казачья. Несмотря на более чем сорока-пятилетний запрет применения ДДТ, соединения этой группы составляли от 7 до 45 % в сумме концентрации обнаруженных ХОС. Максимальное относительное количество Σ ДДТ обнаружено у ершей в бухте Ласпи, где общий уровень содержания ХОС в печени был наименьшим, минимальное – в бухте Казачьей.

Преобладающим метаболитом ДДТ в пробах печени ерша был ДДЭ, содержание

которого в Σ ДДТ составляло в среднем 89 %, что свидетельствовало о том, что исходный пестицид ДДТ в последнее время не поступал в организмы ерша. Однако в пробах наблюдалось некоторое остаточное количество ДДТ, так как метаболизм ранее накопившегося пестицида не успел пройти полностью, поскольку время полного исчезновения ДДТ для различных климатических зон, а также в зависимости от природы матрицы, где он был аккумулирован, составляет от 240 до 3850 сут. (Исидоров, 1999).

В полузакрытых севастопольских бухтах и акватории Любимовки основная доля обнаруженных ХОС в печени ерша была представлена ПХБ, концентрация суммы которых в среднем в 8,8 и 3,4 раза соответственно превышала содержание суммы ДДТ

и его метаболитов. В бухте Ласпи такого превышения промышленных токсикантов над загрязнителями сельскохозяйственного назначения не наблюдали. Максимальное содержание $\Sigma\text{ПХБ}_6$, составляющее в среднем 2044 и 2019 нг/г, обнаружено в печени ершей в бухтах Александровской и Стрелецкой, минимальное – 139 нг/г – в бухте Ласпи (табл. 2).

Доминирующими конгенерами в пробах печени ерша были гексахлорбифенилы 138 и 153 (рис. 3). Максимальное относительное содержание ПХБ 138 и 153 определено в бухте Казачьей, 40 и 43 % соответственно, минимальное – в бухте Ласпи, равное 14 и 25 % соответственно.

Суммарное содержание $\Sigma\text{ПХБ}_6$ и $\Sigma\text{ДДТ}$ не превышало нормативов, установленных в России для печени рыбы, составляло 5000 и 3000 нг/г сырой массы соответственно (Гигиенические требования ..., 2002).

Сравнительный анализ молекулярных биомаркеров показал, что активность каталазы, содержание альбумина, уровень ОМБ и ПОЛ в печени рыб из бухт Александровской и Стрелецкой превышали соответствующие значения в других акваториях. Напротив, активность холинэстеразы в этих наиболее

загрязненных районах была в 1,5 раза ниже, чем в более чистой бухте Ласпи и акватории Любимовки (табл. 3).

Для значений ИБХИ, рассчитанного на основании статистических параметров биохимических маркеров в печени рыб, наблюдались очевидные различия между исследованными районами. В Александровской и Стрелецкой бухтах он был многократно выше, чем в других районах, и составлял 10,87 и 13,03 соответственно. Минимальный индекс, равный 0,01, определен в бухте Ласпи (рис. 4). В целом значения ИБХИ ранжировались по убыванию в ряду: Стрелецкая бухта > Александровская бухта >> Балаклавская бухта > Казачья бухта >> акватория Любимовки >> бухта Ласпи.

Обсуждение результатов

Степень загрязнения донных отложений ХОС изучается во многих районах Мирового океана. Сравнение результатов, полученных в настоящей работе, с литературными данными по уровню содержания ХОС в морях средиземноморского бассейна показало (табл. 4), что концентрации ПХБ в донных осадках полузакрытых бухт Севастополя сопостави-

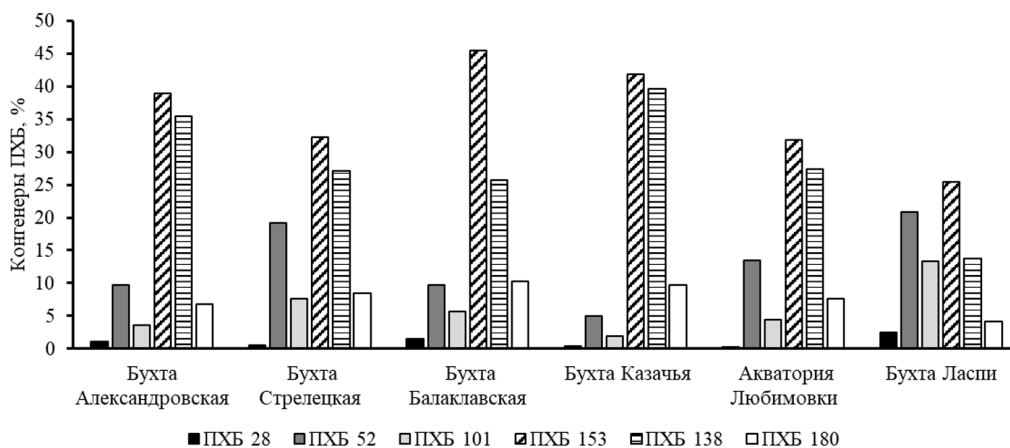


Рис. 3. Соотношение конгенов ПХБ (%) в печени морского ерша

Fig. 3. Proportions of PCB congeners (%) in the liver of the black scorpion fish

Таблица 3. Статистические параметры молекулярных биомаркеров для печени морского ерша *Scorpaena porcus* из различных по загрязненности морских районов СевастополяTable 3. Statistical parameters of molecular biomarkers of the liver of black scorpionfish *Scorpaena porcus* from differently-polluted sea areas near Sevastopol

Район	БХМ	X	m	s	Y	Z	min	S
Б. Александровская, n = 9	Кат	3,43	2,55	0,62	1,42	1,42	-1,34	2,76
	Алб	499,55	340,85	133,70	1,19	1,19	-1,01	2,20
	ХЭ	0,95	1,28	0,22	-1,50	1,50	-1,00	2,50
	ПОЛ	6,28	5,85	1,41	0,30	0,30	-1,19	1,49
	ОМБ	154,01	98,25	39,68	1,41	1,41	-0,90	2,31
Б. Стрелецкая, n = 7	Кат	3,11	2,55	0,62	0,90	0,90	-1,34	2,24
	Алб	518,58	340,85	133,70	1,33	1,33	-1,01	2,34
	ХЭ	1,09	1,28	0,22	-0,86	0,86	-1,00	1,86
	ПОЛ	8,26	5,85	1,41	1,71	1,71	-1,19	2,90
	ОМБ	143,41	98,25	39,68	1,14	1,14	-0,90	2,04
Б. Балаклавская, n = 9	Кат	2,50	2,55	0,62	-0,08	-0,08	-1,34	1,26
	Алб	297,85	340,85	133,70	-0,32	-0,32	-1,01	0,69
	ХЭ	1,31	1,28	0,22	0,14	-0,14	-1,00	0,86
	ПОЛ	5,92	5,85	1,41	0,05	0,05	-1,19	1,14
	ОМБ	76,07	98,25	39,68	-0,56	-0,56	-0,90	0,34
Б. Казачья, n = 8	Кат	2,22	2,55	0,62	-0,53	-0,53	-1,34	0,81
	Алб	259,10	340,85	133,70	-0,61	-0,61	-1,01	0,40
	ХЭ	1,32	1,28	0,22	0,18	-0,18	-1,00	0,82
	ПОЛ	5,69	5,85	1,41	-0,11	-0,11	-1,19	1,08
	ОМБ	80,68	98,25	39,68	-0,44	-0,44	-0,90	0,46
Акватория Любимовки, n = 9	КАТ	2,32	2,55	0,62	-0,37	-0,37	-1,34	0,97
	Алб	263,91	340,85	133,70	-0,58	-0,58	-1,01	0,43
	ХЭ	1,50	1,28	0,22	1,00	-1,00	-1,00	0,00
	ПОЛ	4,17	5,85	1,41	-1,19	-1,19	-1,19	0,00
	ОМБ	72,81	98,25	39,68	-0,64	-0,64	-0,90	0,26
Б. Ласпи, n = 9	Кат	1,72	2,55	0,62	-1,34	-1,34	-1,34	0,00
	Алб	206,11	340,85	133,70	-1,01	-1,01	-1,01	0,00
	ХЭ	1,49	1,28	0,22	0,95	-0,95	-1,00	0,05
	ПОЛ	4,75	5,85	1,41	-0,78	-0,78	-1,19	0,41
	ОМБ	62,51	98,25	39,68	-0,90	-0,90	-0,90	0,00

Примечание: n – количество проанализированных особей; БХМ – биохимический маркер; Кат – каталаза, мкат/мг белка; Алб – альбумин, мг/г белка; ХЭ – холинэстераза, мкмоль/г белка·с; ПОЛ – перекисное окисление липидов, нмоль/мг белка; ОМБ – окислительная модификация белков, ед. опт. плотности/г белка; X – среднее значение биомаркера на станции; m – среднее значение по всей выборке данных; s – стандартное квадратичное отклонение m; параметр Y – стандартизированное среднее X; параметр Z, равный Y или -Y, если биологический эффект соответственно активировался или ингибировался; min – минимальное значение для всех станций; S – стандартизованное значение биохимических маркеров.

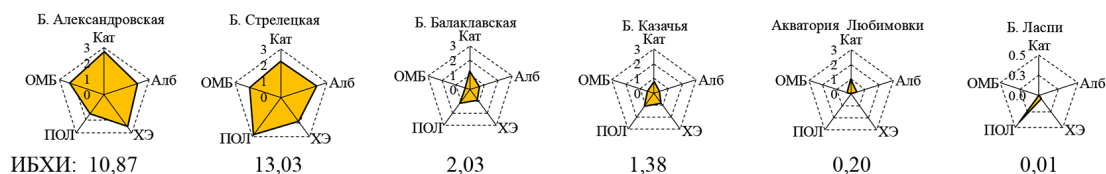


Рис. 4. Показатель ИБХИ для печени морского ерша *Scorpaena porcus* из различных по загрязненности морских районов Севастополя

Fig. 4. IBR of the liver of black scorpionfish *Scorpaena porcus* from differently-polluted sea areas near Sevastopol

Таблица 4. Концентрация Σ ПХБ (от 5 до 20 конгенов) и Σ ДДТ в донных осадках из различных районов морей средиземноморского бассейна

Table 4. PCB (from 5 to 20 congeners) and DDT concentrations in bottom sediments from various regions of the Mediterranean seas

Район	Год	Σ ПХБ ₅₋₂₀ , нг/г сухой массы	Σ ДДТ (п,п'-ДДТ + п,п'-ДДЭ + п,п'-ДДД), нг/г сухой массы	Источник
Севастопольская морская акватория	2016-2018	Σ ПХБ ₅ : 1 – 121	н.обн.* – 51	данное исследование
Бухта Влера (Адриатическое море)	2008	Σ ПХБ ₇ : 1,55 – 72,27	среднее 21,11	(Nuro et al., 2009)
Пролив Босфор	2007	Σ ПХБ ₁₈ : 0,179 – 539,746	-**	(Okay et al., 2009)
Лагуна (канал) Берри, юг Франции	С 01.2008 по 05.2010	Σ ПХБ ₇ : 468,8 – 541,4	н. обн. – 1,09	(Kanzari et al., 2012)
Устьевой район реки Гвадалквивир (юг Испании)	Январь 2001	Σ ПХБ ₂₀ : 3,55 – 92,55	12,44 – 58,80	(Fernandes et al., 2002)
Заливы Салернский и Неапольский (Тирренское море)	Май 2000	-	0,04 – 91,7	(Qu et al., 2018)
Средиземное море, прибрежные воды Египта	2005	-	0,07 – 81,5***	(Barakat et al., 2013)

* – не обнаружено; ** – нет данных; *** – сумма концентрации п,п'-ДДТ и его метаболитов п,п'-ДДЭ и п,п'-ДДД, а также о,п'-ДДТ и его метаболитов о,п'-ДДЭ и о,п'-ДДД.

мы со значениями, обнаруженными в подверженных интенсивному промышленному воздействию бухтах и заливах на юге Испании (Fernandes et al., 2002) и в Адриатическом море (Nuro et al., 2009), но были ниже, чем максимальные значения загрязнения ПХБ в проливе Босфор (Okay et al., 2009) и на юге Франции (Kanzari et al., 2012). Сравнение диапазонов концентрации Σ ДДТ выявило, что уровень загрязненности донных отложений в

севастопольской акватории был выше, чем в канале Берри на юге Франции (Kanzari et al., 2012), но несколько ниже, чем в других районах Средиземного моря (Fernandes et al., 2002; Qu et al., 2018; Barakat et al., 2013) (табл. 4).

Загрязненные донные отложения могут составлять серьезную угрозу для фито- и зообентосных организмов, а через пищевую цепь также оказывать влияние на демерсальных рыб, к которым относится изученный вид.

Экологическую оценку уровней загрязненности грунтов проводят сравнением с определенными нормами. В Российской Федерации такие нормы для морских донных осадков не установлены. Известные рекомендованные критерии экологического качества морских осадков рассчитаны на основании пороговой концентрации (threshold effect concentration – TEC), ниже которой неблагоприятные воздействия маловероятны, вероятной концентрации (probable effect concentration – PEC), при которой возможны негативные эффекты, и предельной концентрации (extreme effect concentration – EEC), воздействие которой приводит к ухудшению в состоянии гидробионтов (Gómez-Gutiérrez et al., 2007). В работе (Gómez-Gutiérrez et al., 2007) для суммы ПХБ указаны уровни TEC, PEC и EEC, равные 29, 274 и 3490 соответственно, для суммы ДДТ, ДДЭ и ДДД – 5,5, 77 и 703 нг/г сухой массы соответственно. Сравнение концентрации ХОС в донных отложениях с этими критериями представлено на рис. 5.

Согласно этим нормам концентрация как $\Sigma\text{ПХБ}_5$, так и $\Sigma\text{ДДТ}$ в донных осадках в бухтах Александровской, Стрелецкой и Балаклавской находилась на уровне, при котором

возможны неблагоприятные воздействия на биоту, а в бухтах Казачьей, Ласпи и в акватории Любимовки отрицательные эффекты от воздействия токсикантов на биоту маловероятны.

В печени рыб максимальное накопление ХОС так же, как в донных отложениях, было обнаружено в полузакрытых бухтах. Соотношение уровней загрязненности донных осадков исследованных акваторий и показателей содержания ХОС в печени ерша показаны на рис. 6.

Статистическая надежность уравнений регрессии на рис. 6 оценена с помощью F-статистики распределения Фишера. В результате расчетов было установлено, что коэффициенты детерминации уравнения зависимости $\Sigma\text{ПХБ}_6$ в печени от $\Sigma\text{ПХБ}_5$ в грунтах статистически значимы и уравнение регрессии статистически надежно ($\alpha = 0,05$), чем подтверждается предположение о влиянии уровня загрязненности среды обитания ерша в изученных полигонах на содержание $\Sigma\text{ПХБ}_6$ в печени скорпены.

Статистическая значимость функциональной зависимости $\Sigma\text{ДДТ}$ в печени от $\Sigma\text{ДДТ}$ в донных осадках не подтверждена.

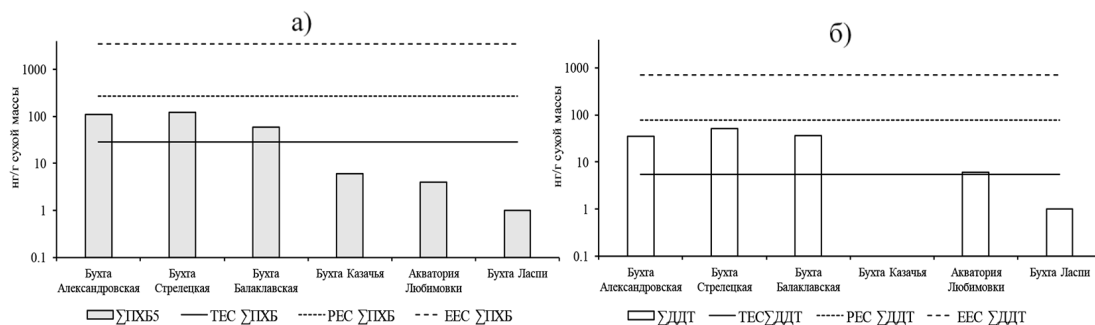


Рис. 5. Концентрация $\Sigma\text{ПХБ}_5$ (а) и $\Sigma\text{ДДТ}$ (б) в исследованных донных осадках и их пороговая концентрация (ТЕС), вероятная концентрация (РЕС) и предельная концентрация (ЕЕС) в донных осадках (Gómez-Gutiérrez et al., 2007)

Fig. 5. ΣPCB_5 (a) and ΣDDT (b) concentrations in the sediments and their threshold effect concentrations (TEC), probable effect concentrations (PEC) and extreme effect concentrations (EEC) in bottom sediments (Gómez-Gutiérrez et al., 2007)

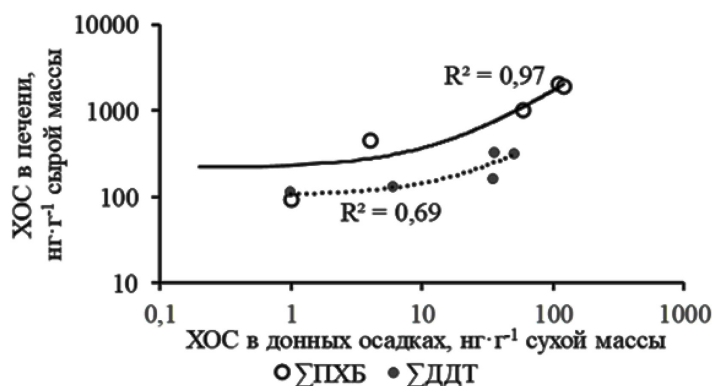


Рис. 6. Соотношение между содержанием ХОС в донных отложениях и печени морского ерша в севастопольской акватории

Fig. 6. Correlation of the OC content in liver of scorpion fish and in bottom sediments in the Sevastopol coastal areas

Сравнительная оценка выявленных концентраций в печени ерша с опубликованными данными затруднена из-за отсутствия единого образа в представлении данных: в публикациях концентрации представлены как на сухую, так и на сырую и липидную массу проб, количество обнаруженных конгенов ПХБ варьирует в широких диапазонах от 6-7 маркерных до 40 индивидуальных соединений, а сумма метаболитов ДДТ – от двух до шести. Несмотря на это, проведенный литературный поиск показал, что в различных акваториях Мирового океана имеются районы, где в печени рыб обнаруживались более высокие концентрации пестицидов группы ДДТ, чем в севастопольской акватории. Так, в Азовском море концентрация в печени бычка-кругляка достигала 936 нг/г (Короткова и др., 2019) (табл. 5). На шельфе Сан-Диего в печени скорпены *Scorpaena guttata* концентрация ΣДДТ в 2000 г. составляла в среднем 363 нг/г (Groce et al., 2005), что в полтора раза выше, чем средняя концентрация ΣДДТ в севастопольском регионе, где в среднем она была равна 212 нг/г (табл. 5). Концентрации ΣДДТ в печени придонных видов рыб в северных морях Баренцево (Плотицына, Зимовейскова, 2016) и

Ирландском (Giltrap et al., 2017) во втором десятилетии XXI в. оказались более низкими, чем обнаруженное содержание ΣДДТ в печени ерша в данном исследовании.

В отличие от ΣДДТ концентрация ΣПХБ в печени проанализированных рыб оказалась выше, чем в большинстве соответствующих опубликованных данных (табл. 5).

Соотношение конгенов ПХБ в печени рыб дает информацию о связи между структурой ПХБ, их распространенностью в окружающей среде и потенциальной токсичностью и является характеристикой изменения изначального состава смеси ПХБ (Бродский и др., 2012). В пробах печени ерша из всех районов, кроме бухты Ласпи, доминирующими конгенерами были высокохлорированные гексахлорбифенилы 138 и 153 (см. рис. 3). Такое избирательное накопление гексахлорбифенилов, с одной стороны, может быть связано с потерей низкохлорированных конгенов благодаря их селективной биотрансформации по мере включения ПХБ в пищевые цепи (Клюев, Бродский, 2000). Кроме этого, повышение доли высокохлорированных бифенилов может быть связано со снижением содержания низкохлорированных конгенов

Таблица 5. Концентрация ПХБ и ДДТ и его метаболитов в печени рыб из различных морских регионов

Table 5. The concentration of PCBs and DDT and its metabolites in the liver of fish from various marine areas

Район	Год	Вид	ΣПХБ, нг/г сырой массы	Σ(п,п'-ДДТ + + п,п'-ДДЭ + + п,п'-ДДД), нг/г сырой массы	Источник
Севастопольская прибрежная акватория (Черное море)	2016-2018	морской ерш <i>Scorpaena porcus</i>	94 – 2044 ¹ среднее – 1016	37 – 326 среднее – 212	данное исследование
Баренцево море	август- сентябрь 2015	черный палтус <i>Reinhardtius</i> sp.	– ²	142	(Плотицына, Зимовейкова, 2016)
		камбала-ерш <i>Pleuronectidae</i> sp.	7,23 +/- 1,51 ³	15,8	
		треска <i>Gadus</i> sp.	84,4 +/- 55,0 макс. – 222 ³	–	
Азовское море	2011-2018	бычок-кругляк <i>Neogobius melanostomus</i>	4,8 – 257,0 ¹	7,4 – 936,0	(Короткова и др., 2019)
Шельф г. Сан-Диего, Калифорния	Июль 2000	скорпена <i>Scorpaena guttata</i>	46 – 381 ⁴	207 – 628, среднее 363 ⁵	(Groce et al., 2005)
Дублинский залив (Ирландское море)	2010	камбала <i>Pleuronectes platessa</i>	7,33 – 28,966 ⁶	2,56 – 9,55	(Giltrap et al., 2017)

¹ – сумма концентрации шести конгенов ПХБ (по IUPAC): 28, 52, 101, 138, 153, 180; ² – нет данных; ³ – сумма концентрации 11 конгенов ПХБ по IUPAC: 28, 31, 52, 99, 101, 105, 118, 138, 153, 156, 180 +/- СКО; ⁴ – сумма концентрации 5 конгенов ПХБ (по IUPAC): 118, 138, 153, 180, 187; ⁵ – сумма концентрации п,п'-ДДТ и его метаболитов п,п'-ДДЭ и п,п'-ДДД, а также о,п'-ДДТ и его метаболитов о,п'-ДДЭ и о,п'-ДДД; ⁶ – сумма концентрации 7 конгенов ПХБ (по IUPAC): 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180.

в среде обитания рыб, так как известно, что в загрязненных ПХБ биотопах в микробном сообществе формируются бактерии, способные разрушать полихлорбифенилы (Vasilyeva, Strijakova, 2007). В то же время, в экологически чистых районах активные штаммы деструкторов токсичных соединений выявлены не были (Егорова и др., 2014). В бухте Ласпи не наблюдалось значительного превышения гексахлорированных бифенилов над тетра- и пентахлорированными конгенерами, что, возможно, связано с невысоким уровнем загрязненности ХОС ее акватории, близким в последние годы к таковому в глубоководной части Черного моря (Петренко и др., 2015).

Воздействие высоких концентраций хлорорганических ксенобиотиков на биоту

может вызвать множество специфичных ответных реакций, которые определяют перестройки на разных уровнях – от биохимических процессов в клетках до популяционных изменений, и оказать влияние на многие метаболические процессы в организме, в том числе на процессы фотосинтеза у первичных продуцентов (Егоров и др., 2012), антиоксидантной системы – у консументов (Малахова и др., 2018).

Для оценки воздействия токсикантов используют молекулярные биомаркеры как ранние прогностические показатели. Универсальным показателем окислительного стресса при действии отдельных токсикантов и комплексном загрязнении акваторий является повышение в тканях гидробионтов со-

держания продуктов ПОЛ и ОМБ (Napierska et al., 2009; Rudneva et al., 2016; de Moura et al., 2017). В данном исследовании увеличение уровня ОМБ и ПОЛ в печени ершей из наиболее загрязненных районов (бухты Стрелецкая и Александровская) свидетельствует о смещении прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону интенсификации процессов свободнорадикального окисления белков и липидов и развитии окислительного стресса. В то же время, увеличение активности каталазы у рыб из бухт Стрелецкой и Александровской является адаптивной ответной реакцией фермента на загрязнение и отражает способность активно противостоять последствиям окислительного стресса. Ранее также было отмечено, что при адаптации к условиям загрязнения среды обитания гидробионты усиливали антиоксидантную защиту, при этом реакцией на действие ПХБ было повышение активности ферментов супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы (Schlezingner et al., 2000).

Определение концентрации альбумина в печени и сыворотке крови рыб является важнейшим диагностическим инструментом, отражающим функции печени, метаболический статус, стрессовые условия и качество среды обитания. Альбумин участвует в процессах детоксикации и обладает высокой антиоксидантной активностью (Пашина, Золотавина, 2014; Michelis et al., 2010). Увеличение концентрации альбумина в печени ершей из бухт Александровской и Стрелецкой по сравнению со значениями у рыб из других акваторий может быть следствием его интенсивного синтеза для транспорта и обезвреживания ксенобиотиков, поступающих в организм.

Определение активности ХЭ и ее ингибирование при различных воздействиях является удобным, быстрым и адаптивным тестом оценки токсичности многих химических сое-

динений (Gad, 2009; Rudneva et al., 2016). Снижение активности ХЭ в печени ершей из наиболее загрязненных бухт (Александровской и Стрелецкой), вероятно, обусловлено ингибирующим действием высоких концентраций токсикантов. Имеющиеся в литературе данные также свидетельствуют о снижении холинэстеразной активности в тканях рыб из районов с высоким уровнем загрязнения в результате ингибирования фермента токсикантами (Gad, 2009; Rudneva et al., 2016).

Общей оценкой влияния загрязняющих веществ на ершей может быть величина рассчитанных ИБХИ, для которых наблюдались очевидные различия между исследованными районами (рис. 4). Для Александровской и Стрелецкой бухт величина ИБХИ была многократно выше, чем для других районов, и составляла 10,87 и 13,03.

Значительное увеличение ИБХИ у рыб в двух бухтах, очевидно, связано с внешним негативным воздействием на исследованные особи в этих районах. Анализ связи значений ИБХИ с уровнями накопления ХОС в печени рыб (рис. 7а) и в донных отложениях (рис. 7б) показал, что значительные коэффициенты корреляции при высоком уровне значимости характеризуют тесную прямую связь между ИБХИ и содержанием $\Sigma\text{ПХБ}_5$ в донных отложениях ($r = 0,95$, $p \leq 0,05$) и $\Sigma\text{ПХБ}_6$ – в печени ($r = 0,95$, $p \leq 0,05$). Видимо, изученные биохимические параметры могут быть приоритетными маркерами для обнаружения откликов организмов на воздействие данных токсикантов.

Интегральные биохимические индексы нашли широкое применение в мониторинге состояния водных организмов. ИБХИ могут рассчитываться на основе различного количества биохимических параметров, в некоторых работах их количество достигает сотни (Немова, Высоцкая, 2004). Также показано,

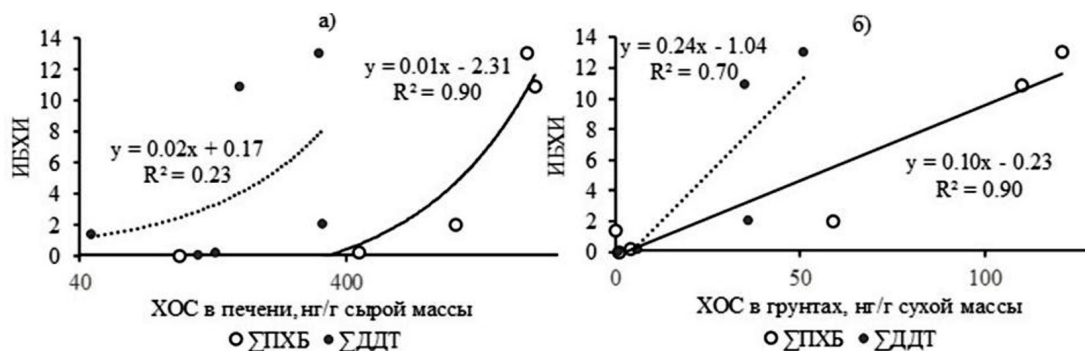


Рис. 7. Соотношение между средней концентрацией ХОС в печени морского ерша (а) и донных отложениях (б) в исследуемых районах севастопольской морской акватории и ИБХИ, рассчитанного по биохимическим показателям печени ерша

Fig. 7. Correlation between the OC mean concentration in the liver of scorpion fish (a) and in sediments (б) in the Sevastopol coastal area and the IBR in the liver of scorpion fish

что индексы могут быть рассчитаны на основе измерения небольшого числа показателей (Beliaeff, Burgeot, 2002; Luk'yanova, Korchagin, 2017). В работе (Beliaeff, Burgeot, 2002) был рассчитан ИБХИ на основе измерений активности этоксирезорифин-О-деэтилазы, ацетилхолинэстеразы и содержания ДНК-аддуктов в печени камбалы *Platichthys flesus* из четырех районов в заливе Сены (Ла-Манш). Авторы данного исследования сравнивали ИБХИ с содержанием полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) и ПХБ в печени рыб. Ими установлено увеличение значения ИБХИ в районах с высоким уровнем комплексного загрязнения среды обитания рыб, при этом значения ИБХИ прямо коррелировали с содержанием ПАУ и ПХБ в их печени (Beliaeff, Burgeot, 2002).

С использованием молекулярных биомаркеров – активности каталазы, глутатион-S-трансферазы, уровня ПОЛ и концентрации глутатиона – оценено состояние морских и эстуарных организмов, обитающих в загрязненной прибрежной зоне зал. Петра Великого Японского моря. С помощью статистической обработки результатов рассчитаны и графи-

чески представлены интегральные биохимические индексы для мидий *Crenomytilus grayanus*, собранных на морских станциях с разным уровнем загрязнения, и мохнаторуко-го краба *Eriocheir japonica* из эстуариев рек, впадающих в зал. Петра Великого. Отмечено, что значения индексов соответствовали степени загрязнения районов отбора животных (Luk'yanova, Korchagin, 2017).

Заключение

Сравнительное исследование содержания ХОС в донных отложениях районов отлова морского ерша в севастопольской морской акватории с экологическими нормами показало, что в бухтах Александровской, Стрелецкой и Балаклавской уровень загрязнения ПХБ и ДДТ может привести к неблагоприятным воздействиям на биоту, а в бухтах Казачья, Ласпи и в акватории Любимовки отрицательные эффекты от воздействия токсикантов маловероятны.

Концентрация ХОС в печени ерша в бухтах Александровская и Стрелецкая, составляющая для ΣПХБ₆ 2044 и 2019 и для ΣДДТ 162 и 319 нг/г сырой массы, была выше в десятки раз, чем в открытых акваториях, и положи-

тельно коррелировала с количеством накопленных поллютантов в донных осадках.

Для определения отклика организма на уровень загрязнения в печени ерша исследовали активность холинэстеразы, каталазы, содержание альбумина, уровень окислительной модификации белков и продуктов перекисного окисления липидов. Общая оценка влияния загрязняющих веществ на ершей проведена при помощи сравнения величин ИБХИ, рассчитанных по комплексу этих биохимических маркеров. Диапазон величины ИБХИ изменялся от 0,01 в бухте Ласпи до

13,03 в бухте Стрелецкой. Выявлены статистически достоверные корреляционные связи между значениями ИБХИ и концентрацией ПХБ в печени ерша и в донных отложениях ($r=0,95$, $p<0,05$), следовательно, значительная вариабельность ИБХИ определяется уровнем загрязненности среды обитания и печени ерша. По показателям ИБХИ рыбы в районах бухт Ласпи, Казачьей и в открытой акватории Любимовки в летние сезоны 2016-2018 гг. находились в более благоприятном состоянии, чем в полузакрытых бухтах Александровской, Стрелецкой и Балаклавской.

Благодарности / Acknowledgements

Работа выполнена по темам государственных заданий ФИЦ ИнБЮМ «Молисмологические и биогеохимические основы гомеостаза морских экосистем», регистрационный номер АААА-А18-118020890090-2, и «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана», регистрационный номер АААА-А18-118020890074-2.

The study was performed to fulfil State Assignments to FRC IBSS “Molismological and biogeochemical basis of homeostasis of marine ecosystems”, No. АААА-А18-118020890090-2, and “Formation and anthropogenic transformation of biodiversity and bioresources in the Azov-Black Sea basin and other regions of the Global Ocean, No. АААА-А18-118020890074-2.

Список литературы / References

Бродский Е.С., Шелепчиков А.А., Фешин Д.Б., Ефименко Е.С., Агапкина Г.И. (2012) Профиль конгенов полихлорированных бифенилов в почвах Москвы. *Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение*, 2: 35–40 [Brodskiy E.S., Shelepchikov A.A., Feshin D.B., Efimenko E.S., Agapkina G.I. (2012) Profile of congeners of polychlorinated biphenyls in soils of Moscow-City. *Bulletin of Moscow University. Series 17: Soil Science* [Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 17: Pochvovedenie], 2: 35–40 (in Russian)]

Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов (Сан-ПиН 2.3.2.1078-01) (2002) М., Минздрав РФ, 164 с. [Hygienic requirements for food safety and nutritional value (San-PiN 2.3.2.1078-01) (2002) Moscow, Ministry of Health of the Russian Federation, 164 p. (in Russian)]

ГОСТ 7636-85. Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа (2003) М., ИПК Стандартов, 23 с. [GOST 7636-85. Fish, marine mammals, marine invertebrates and products of their processing. Analysis methods (2003) Moscow, IPK Standards, 23 p. (in Russian)]

ГОСТ Р. 53217-2008. Качество почвы. Определение содержания хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов. Газохроматографический метод с электрозахват-

ным детектором (2008) М., Стандартинформ [GOST R. 53217-2008. Soil quality. Determination of the content of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls. Gas chromatographic method with an electron capture detector (2008) Moscow, Standartinform (in Russian)]

Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. (1995) Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения. *Вопросы медицинской химии*, 41(1): 24–26 [Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D.A., Porotov I.G. (1995) Oxidative modification of human serum proteins. A method of determining it. *Issues of Medical Chemistry* [Voprosy meditsinskoi khimii], 41(1): 24–26 (in Russian)]

Егоров В.Н., Малахова Л.В., Малахова Т.В., Тодоренко Д.А. (2012) Адаптационные характеристики черноморской зеленой водоросли *Ulva rigida* Ag. при хроническом и импактном воздействии полихлорбифенилов. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія*, 32: 12–18 [Egorov V.N., Malakhova L.V., Malakhova T.V., Todorenko D.A. (2012) Adaptable characteristics of the Black Sea green algae *Ulva rigida* Ag. under chronic and impact influence of polychlorinated biphenyls. *Scientific Bulletin of the Uzhhorod University. Series Biology* [Naukoviy visnik Uzhgorods'kogo universitetu. Seriya Biologiya], 32: 12–18 (in Russian)]

Егорова Д.О., Шестакова Е.А., Первова М.Г., Плотникова Е.Г. (2014) Бактерии-деструкторы полихлорированных бифенилов из почв с различным уровнем загрязнения. *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*, 4: 64–72 [Egorova D.O., Shestakova E.A., Pervova M.G., Plotnikova E.G. (2014) Bacteria destructors of polychlorinated biphenyls from the soil with various level of pollution. *Bulletin of Perm University. Biology* [Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya], 4: 66–72 (in Russian)]

Исидоров В.А. (1999) *Введение в химическую экотоксикологию*. СПб., Химиздат, 144 с. [Isidorov V.A. (1999) *Introduction to chemical ecotoxicology*. St. Petersburg, Khimizdat, 144 p. (in Russian)]

Каталог инструкций. Диагностические наборы реактивов для клинических, биохимических и микробиологических исследований (2005) Днепропетровск, Филисит-диагностика, 199 с. [Catalog of instructions. Diagnostic reagent kits for clinical, biochemical and microbiological studies (2005) Dnepropetrovsk, Filisit-diagnostika, 199 p. (in Russian)]

Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. (1988) Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*, 1: 16–19 [Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G., Tokarev V.E. (1988) Method for determination of catalase activity. *Laboratory Work* [Laboratornoe delo], 1: 16–19 (in Russian)]

Клюев Н.А., Бродский Е.С. (2000) Определение полихлорированных бифенилов в окружающей среде и биоте. *Полихлорированные бифенилы. Супертоксиканты XXI века. Информационный выпуск № 5*. М., ВИНТИ, с. 31–63 [Klyuev N.A., Brodsky E.S. (2000) Determination of polychlorinated biphenyls in the environment and biota. *Polychlorinated biphenyls. Supertoxicants of the 21st century. News release No. 5*. Moscow, VINITI, p. 31–63 (in Russian)]

Короткова Л.И., Кораблина И.В., Барабашин Т.О. (2019) Аккумуляция приоритетных поллютантов в рыбах Азовского моря за последнее десятилетие. *Водные биоресурсы и среда обитания*, 2(3): 20–32 [Korotkova L.I., Korablina I.V., Barabashin T.O. (2019) Accumulation of priority pollutants in the fish of the Azov sea over the last decade. *Aquatic Bioresources & Environment* [Vodnye bioresursy i sreda obitaniya], 2(3): 20–32 (in Russian)]

Логоминова И.В., Малахова Л.В., Малахова Т.В., Артов А.М., Коростелева А.В., Постникова А.Н. (2018) Новые данные о хлорорганических поллютантах в подкожном жире черноморских китообразных. *Труды Карадагской научной станции им. Т.И. Вяземского – природного заповедника РАН*, 4(8): 16–25 [Logomonova I.V., Malachova L.V., Malachova T.V., Artov A.M., Korosteleva A.V., Postnikova A.N. (2018) New data on organochlorine pollutants in the subcutaneous fat of the Black Sea cetaceans. *Proceedings of the T.I. Vyazemsky Karadag scientific station – Nature Reserve of the RAS* [Trudy Karadagskoy nauchnoy stancii im. T.I. Vyazemskogo – prirodnogo zapovednika RAN], 4(8): 16–25 (in Russian)]

Малахова Л.В. (2005) Распределение полихлорированных бифенилов в поверхностном слое донных осадков Севастопольской бухты (Черное море). *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа*, 12: 268–272 [Malakhova L.V. (2005) Distribution of polychlorinated biphenyls in the surface sediments of Sevastopol Bay (the Black Sea). *Ecological Safety of Coastal and Shelf Zones and Multiple Use of Shelf Resources* [Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoy i shel'fovoy zon i kompleksnoe ispol'zovanie resursov shel'fa], 12: 268–272 (in Russian)]

Малахова Л.В., Егоров В.Н., Малахова Т.В. (2019) Хлорорганические соединения в компонентах экосистем Севастопольских бухт, морской акватории природного заповедника «Мыс Мартыан» и Ялтинского порта. *Вода: химия и экология*, 1-2: 57–62 [Malakhova L.V., Egorov V.N., Malakhova T.V. (2019) Organochlorine compounds in components of Sevastopol Bays, Cape Martyan Nature Reserve marine area and Yalta port ecosystems. *Water: Chemistry and Ecology* [Voda: khimiya i ekologiya], 1-2: 57–62 (in Russian)]

Малахова Л.В., Скуратовская Е.Н., Малахова Т.В., Болтачев А.Р., Лобко В.В. (2018) Хлорорганические соединения в ерше *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 в акватории Севастополя (Черное море): пространственное распределение и биологический отклик на уровень накопления загрязнителей. *Морской биологический журнал*, 3(4): 51–63 [Malakhova L.V., Skuratovskaya E.N., Malakhova T.V., Boltachev A.R., Lobko V.V. (2018) Organochlorine compounds in scorpion fish *Scorpaena porcus* Linnaeus, 1758 in the Sevastopol marine area (Black sea): spatial distribution and biological response. *Marine Biological Journal* [Morskoy biologicheskii zhurnal], 3(4): 51–63 (in Russian)]

МВИ М.Н. 2352–2005. *Методика одновременного определения остаточных количеств полихлорированных бифенилов и хлорорганических пестицидов в рыбе и рыбной продукции с помощью газожидкостной хроматографии* (2005) Минск, ГУ «РНПЦ гигиены» МЗ РБ. [GIN M.N. 2352–2005. *Method for the simultaneous determination of residual amounts of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in fish and fish products using gas-liquid chromatography* (2005) Minsk, GU “RNPZ gigieny” of the Ministry of Health of the Republic of Belarus (in Russian)]

Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. (2004) *Биохимическая индикация состояния рыб*. М., Наука, 215 с. [Nemova N.N., Vysotskaya R.U. (2004) *Biochemical indication of the state of fish*. Moscow, Nauka, 215 p. (in Russian)]

Овсяный Е.И., Романов А.С., Миньковская Р.Я., Красновид И.И., Озюменко Б.А., Цымбал И.М. (2001) Основные источники загрязнения морской среды Севастопольского региона. *Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование*

ресурсов шельфа, 2: 138–152 [Ovsyany E.I., Romanov A.S., Minkovskaya R.Ya., Krasnovid I.I., Ozyumenko B.A., Tsybmal I.M. (2001) The main sources of marine pollution in the Sevastopol region. *Ecological Safety of Coastal and Shelf Zones and Multiple Use of Shelf Resources* [Ekologicheskaya bezopasnost' pribrezhnoy i shel'fovoy zon i kompleksnoe ispol'zovanie resursov shel'fa], 2: 138–152 (in Russian)]

Пашина Е.В., Золотавина М.Л. (2014) Альбумин в оценке эндогенной интоксикации. *Наука и современность*, 33: 23–28 [Pashina E.V., Zolotavina M.L. (2014) Albumin in the assessment of endogenous intoxication. *Science and Modernity* [Nauka i sovremennost'], 33: 23–28 (in Russian)]

Петренко О.А., Жугайло С.С., Авдеева Т.М. (2015) Результаты многолетних исследований уровня загрязнения морской среды Азово-Черноморского рыбохозяйственного бассейна. *Труды Южного научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии*, 53: 4–18 [Petrenko O.A., Zhugaylo S.S., Avdeeva T.M. (2015) Results of long-term investigations on the contamination level in the Azov and Black Seas fishery basin marine environment. *Proceedings of the Southern Research Institute of Fisheries and Oceanography* [Trudy Yuzhnogo nauchno-issledovatel'skogo instituta rybnogo hozyajstva i okeanografii], 53: 4–18 (in Russian)]

Плотицына Н.Ф., Зимовейскова Т.А. (2016) Накопление хлорированных углеводородов в промысловых рыбах Баренцева моря. *Морские биологические исследования: достижения и перспективы*. Севастополь, Экоси-Гидрофизика, с. 176–180 [Plotitsyna N.F., Zimoveyskova T.A. (2016) Accumulation of chlorinated hydrocarbons in commercial fish of the Barents Sea. *Marine biological research: achievements and prospects*. Sevastopol, Ekosi-Gidrofizika, p. 176–180 (in Russian)]

Поликарпов Г.Г., Жерко Н.В. (1996) Экологические аспекты изучения загрязнения Черного моря хлорорганическими ксенобиотиками. *Экология моря*, 45: 92–100 [Polikarpov G.G., Zherko N.V. (1996) Ecological aspects of studying of pollution of the Black sea by organochlorine xenobiotics. *Ecology of the Sea* [Ekologiya morya], 45: 92–100 (in Russian)]

Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. (1977) Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. *Современные методы в биохимии*. М., Медицина, с. 66–68 [Stal'naya I.D., Garishvili T.G. (1977) Method for determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. *Modern Methods in Biochemistry*. Moscow, Medicina, p. 66–68 (in Russian)]

Трегер Ю.А., Розанов В.Н. (2000) Производство и потребление полихлорбифенилов в России. *Полихлорированные бифенилы. Супертоксиканты XXI века. Информационный выпуск № 5*. М., ВИНТИ, с. 64–70 [Treger Yu.A., Rozanov V.N. (2000) Production and consumption of polychlorbiphenyls in Russia. *Polychlorinated biphenyls. Supertoxicants of the 21st century. News release No. 5*. Moscow, VINITI, p. 64–70 (in Russian)]

Barakat A.O., Mostafa A., Wade T.L., Sweet S.T., El Sayed N.B. (2013) Distribution and ecological risk of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in sediments from the Mediterranean coastal environment of Egypt. *Chemosphere*, 93(3): 545–554

Beliaeff B., Burgeot T. (2002) Integrated biomarker response: A useful tool for ecological risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(6): 1316–1322

Belokopytov V.N. (1998) “Oceanographer”: applied software for oceanographic surveys. *Abstracts of International Symposium on Information Technology in Oceanography (ITO-98, October, 1998)*. Goa, India, p. 79

De Moura F.R., Brentegani K.R., Gemelli A., Sinhorin A.P., Sinhorin V.D.G. (2017) Oxidative stress in the hybrid fish jundiara (*Leiarius marmoratus* × *Pseudoplatystoma reticulatum*) exposed to Roundup Original. *Chemosphere*, 185: 445–451

Gad N.S. (2009) Determination of glutathione related enzymes and cholinesterase activities in *Oreochromis niloticus* and *Clarias gariepinus* as bioindicator for pollution in Lake Manzala. *Global Veterinaria*, 3(1): 37–44

Giltrap M., Ronan J., Bignell J.P., Lyons B.P., Collins E., Rochford H., McHugh B., McGovern E., Bull L., Wilson J. (2017) Integration of biological effects, fish histopathology and contaminant measurements for the assessment of fish health: A pilot application in Irish marine waters. *Marine Environmental Research*, 129: 113–132

Gómez-Gutiérrez A., Garnacho E., Bayona J.M., Albaigés J. (2007) Screening ecological risk assessment of persistent organic pollutants in Mediterranean sea sediments. *Environment International*, 33(7): 867–876

Groce A.K., Allen M.J., Bolkhovitinov A. (2005) Relationships among organochlorines and lipid classes in two demersal fish species from southern California. *Southern California Coastal Water Research Project. Annual report. Issue 2003*. p. 172–177

Kanzari F., Syakti A.D., Asia L., Malleret L., Mille G., Jamoussi B., Abderrabba M., Doumenq P. (2012) Aliphatic hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, organochlorine, and organophosphorous pesticides in surface sediments from the Arc river and the Berre lagoon, France. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(2): 559–576

Klimova T.N., Vdodovich I.V., Zagorodnyaya Yu.A., Ignatyev S.M., Malakhova L.V., Dotsenko V.S. (2014) Ichthyoplankton in the plankton community of the Crimean Peninsula shelf zone (Black Sea) in July 2010. *Journal of Ichthyology*, 54(6): 409–421

Leiniö S., Lehtonen K.K. (2005) Seasonal variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* from the northern Baltic Sea. *Comparative Biochemistry and Physiology – Part C: Toxicology & Pharmacology*, 140(3-4): 408–421

Li Y.F., Zhulidov A.V., Robarts R.D., Korotova L.G., Zhulidov D.A., Gurtovaya T.Yu., Ge L.P. (2006) Dichlorodiphenyltrichloroethane usage in the former Soviet Union. *Science of the Total Environment*, 357(1-3): 138–145

Luk'yanova O.N., Korchagin V.P. (2017) Integral biochemical index of the state of aquatic organisms under polluted conditions. *Biology Bulletin*, 4(2): 203–209

Malakhova L., Giragosov V., Khanaychenko A., Malakhova T., Egorov V., Smirnov V. (2014) Partitioning and level of organochlorine compounds in the tissues of the Black Sea Turbot at the South-Western Shelf of Crimea. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14: 993–1000

Michelis R., Kristal B., Snitkovsky T., Sela S. (2010) Oxidative modifications impair albumin quantification. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 401(1): 137–142

Napierska D., Barsiene J., Mulkiewicz E., Podolska M., Rybakovas A. (2009) Biomarker responses in flounder *Platichthys flesus* from the Polish coastal area of the Baltic Sea and applications in biomonitoring. *Ecotoxicology*, 18(7): 846–859

Nuro A., Marku E., Bishyti D., Haxhij B., Bregasi I., Koni B. (2009) Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls levels in biota and sediment samples of Vlora Bay. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 10(4): 986–998

Okay O.S., Karacik B., Başak S., Henkelmann B., Bernhöft S., Schramm K.W. (2009) PCB and PCDD/F in sediments and mussels of the Istanbul strait (Turkey). *Chemosphere*, 76(2): 159–166

Qu C., Sun Y., Albanese S., Lima A., Sun W., Di Bonito M., Qi S., De Vivo B. (2018) Organochlorine pesticides in sediments from Gulfs of Naples and Salerno, Southern Italy. *Journal of Geochemical Exploration*, 195: 87–96

Reddy A.V.B., Moniruzzaman M., Aminabhavi T.M. (2019) Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment: Recent updates on sampling, pretreatment, cleanup technologies and their analysis. *Chemical Engineering Journal*, 358: 1186–1207

Rudneva I.I., Skuratovskaya E.N., Chesnokova I.I., Shaida V.G., Kovyrshina T.B. (2016) Biomarker response of Black Sea scorpion fish *Scorpaena porcus* to anthropogenic impact. *Advances in Marine Biology. Volume 1*. Kovács A., Nagy P. (eds.) Nova Science Publishers, p. 119–145

Schleizinger J.J., Keller J., Verbrugge L.A., Stegeman J.J. (2000) 3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl oxidation in fish, bird and reptile species: relationship to cytochrome P450 1A inactivation and reactive oxygen production. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 125(3): 273–286

Tierney K., Casselman M., Takeda S., Farrell T., Kennedy C. (2007) The relationship between cholinesterase inhibition and two types of swimming performance in chlorpyrifos-exposed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(5): 998–1004

Van der Oost R., Beyer J., Vermeulen N.P.E. (2003) Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2): 57–149

Vasilyeva G.K., Strijakova E.R. (2007) Bioremediation of soils and sediments contaminated by polychlorinated biphenyls. *Microbiology*, 76(6): 639–653

Vieira C.E.D., Costa P.G., Lunardelli B., de Oliveira L.F., da Costa Cabrera L., Risso W.E., Primel E.G., Meletti P.C., Fillmann G., Bueno dos Reis Martinez C. (2016) Multiple biomarker responses in *Prochilodus lineatus* subjected to short-term in situ exposure to streams from agricultural areas in Southern Brazil. *Science of the Total Environment*, 542: 44–56